

⑫ 公開特許公報(A)

平2-257864

⑬ Int. Cl.

A 23 L 3/015  
1/01

識別記号

庁内整理番号

Z 7329-4B  
6926-4B

⑭ 公開 平成2年(1990)10月18日

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全4頁)

⑮ 発明の名称 高圧処理による細菌芽胞の殺菌方法

⑯ 特 願 平1-80175

⑰ 出 願 平1(1989)3月30日

⑱ 発 明 者 栗 生 武 良 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社中央  
研究所内

⑲ 発 明 者 滝 妥 恵 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社中央  
研究所内

⑳ 発 明 者 光 浦 暢 洋 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社中央  
研究所内

㉑ 出 願 人 味の素株式会社 東京都中央区京橋1丁目5番8号

明 細 書

1. 発明の名称

高圧処理による細菌芽胞の殺菌方法

2. 特許請求の範囲

1. 細菌の芽胞が発芽、生育することにより生ずる種々劣化、障害を防止する必要のある原料、仕掛け品、製品を30℃～100℃未満で、1.000～10.000kg/cm<sup>2</sup>の圧力を維持し、5分～5時間処理する事で殺菌することを特徴とする高圧処理による細菌芽胞の殺菌方法。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は細菌の芽胞を殺菌し、品質的、外観的にも劣化のない状態とし、長期間保存が可能、商品価値を高めることに關するものである。

(従来の技術)

従来、細菌の芽胞の殺菌は、原料、或いは商品となった状態で100℃で30分以上～120℃15分などの加熱処理などにより殺菌していたが、この方法の欠点として、著しい褐変、風味の著し

い劣化、香り、ビタミン、アミノ酸などの成分の分解が起こり、品質低下も避けられない状態であった。又、これらの劣化を防止しようとして、加熱温度を下げると、殺菌できず、1コ/g or mlでも芽胞が残存すると流通段階で発芽し、クレームの発生、回収などに発展し、経済的にも損失の大きなものとなった。更に加熱殺菌などのできない香辛料、澱粉、エキス類、調味料の子などは、バチルス(*Bacillus*)属を始めとする一般生菌数、酵母、カビなど、更に大腸菌群陽性と多数の微生物に汚染されており、更に、チキン、ビーフ・エキスなどには嫌気性芽胞形成菌が存在し、企業サイドでは微生物規格外となり加工原料が確保出来ず困惑している。また、高圧処理によるバチルス(*Bacillus*)属の殺菌に関しては Zimmermanらによるバチルス・ズブチリス(*Bacillus subtilis*)の芽胞を12.000kg/cm<sup>2</sup>、14時間で殺菌できると報告しているが、このような高圧、長時間処理では実用化には不向きである。

(発明が解決しようとする課題)

PTO 2000-621

S.T.I.C. Translations Branch

本発明は現行の加熱殺菌法の欠点である香り、成分などの分解、風味の劣化、品質の低下を防止し、更に殺菌できない商品を圧力で殺菌し、商品の長期保存、成分の損失もなく商品価値を高めることを目的としている。

(課題を解決する為の手段)

本発明者は上記課題を解決すべく鋭意検討した結果、細菌の芽胞を殺菌しようとする対象物を一定の圧力、温度下で、一定時間保存することにより、品質の低下もほとんどなく殺菌できる事を見出し、本発明の完成に至った。

以下に本発明の内容について詳細に述べる。

本発明は、バチルス(Bacillus)属及びクロストリジウム(Clostridium)属芽胞が発芽、生育してはならないものなら、原料、仕掛け品、製品など、どの状態で処理してもよく、更に対象物も限定せず、例えば数の子、香辛料、生薬などの従来加熱の出来なかった食品、水練、食肉製品用でん粉などは耐熱性芽胞数に規制があるのでこの様な原料、製品などにも適用できる。

な条件で高圧処理した。

結果を第1表に示す。

バチルス・ズブチリス(B. subtilis)、バチルス・メガテリウム(B. megaterium)等のように低圧で短時間に死滅するグループと、バチルス・セレウス(B. cereus)、バチルス・リケニホルミス(B. licheniformis)のように高圧で長時間処理しないと死滅しないグループと2群に分けられ、更に、食塩の増加即ちAwの低下は耐圧性の増加に通じる結果が得られた。

以下余白

本発明を実施するには、殺菌しようとする対象物を耐圧性容器、好ましくはテフロン製の容器に充填後、設定温度まで加温し、1000~10,000kg/cm<sup>2</sup>の圧力で5分~5時間保持する。加温温度は殺菌を目的とするバチルス(Bacillus)属、クロストリジウム(Clostridium)属の種類、静菌剤の添加有無など、或いは材質などにより決定される。一般的には、保持温度によっても異なるが、100℃近辺であれば3000kg/cm<sup>2</sup>でもよく、60℃前後であれば6000kg/cm<sup>2</sup>、30℃前後であれば10,000kg/cm<sup>2</sup>にし、保持時間は5分~5時間、好ましくは20分~3時間で充分である。

加圧装置で用いる圧媒は限定しないが、食品であれば市水の使用が好ましい。

以下実施例について説明する。

(実施例1)

標準寒天培地にて、30℃、2週間培養したバチルス(Bacillus)属を1/15モル、リン酸バッファー(pH6)に懸濁し、80℃30分の加熱により芽胞のみとし内部セルに充填し表-1に示した様



表 - 1 加圧装置によるバチルス(Bacillus)属芽胞の殺菌(60℃, pH6)

菌 種	B. subtilis						B. cereus						B. licheniformis					
	10 <sup>4</sup>						10 <sup>4</sup>						10 <sup>4</sup>					
コントロール (コ/ml)	10 <sup>4</sup>						10 <sup>4</sup>						10 <sup>4</sup>					
圧 力 (kg/cm <sup>2</sup> )	3000		4500		6000		3000		4500		6000		3000		4500		6000	
保持時間 (分)	20	40	20	40	20	40	20	40	20	40	20	40	20	40	20	40	20	40
食 塩 (%)	0	17	0	0	0	0	10 <sup>4</sup>	-	-	10 <sup>4</sup>	7	0	10 <sup>4</sup>	-	-	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10
	3	35	3	0	0	0	10 <sup>4</sup>	-	-	10 <sup>4</sup>	-	10 <sup>4</sup>	0	-	-	10 <sup>4</sup>	-	6
	6	49	25	0	0	0	10 <sup>4</sup>	-	-	10 <sup>4</sup>	-	10 <sup>4</sup>	77	-	-	10 <sup>4</sup>	-	35

菌 種	B. coagulans						B. megaterium						B. polymyxa					
	10 <sup>4</sup>						10 <sup>4</sup>						10 <sup>4</sup>					
コントロール (コ/ml)	10 <sup>4</sup>						10 <sup>4</sup>						10 <sup>4</sup>					
圧 力 (kg/cm <sup>2</sup> )	3000		4500		6000		3000		4500		6000		3000		4500		6000	
保持時間 (分)	20	40	20	40	20	40	20	40	20	40	20	40	20	40	20	40	20	40
食 塩 (%)	0	10 <sup>4</sup>	-	10 <sup>4</sup>	12	4	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0	2	0
	3	-	-	-	90	-	44	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	-	-	-	10 <sup>4</sup>	-	10 <sup>4</sup>	13	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0

(実施例 2)

実施例 1 と同様に準備した、バチルス・リケニホルミス (*Bacillus licheniformis*) の芽胞にエタノールを添加し、表 - 2 に示した様な条件で高圧処理した。

結果を表 - 2 に示す。

以下余白

表 - 2 バチルス・リケニホルミス (*Bacillus licheniformis*) の殺菌

温度 (℃)	30℃						80℃					
	2000			8000			2000			8000		
圧 力 (kg/cm <sup>2</sup> )	0			5			0			5		
アルコール濃度 (%)	0			5			0			5		
時 間 (分)	20	40	20	40	20	40	20	40	20	40	20	40
高圧処理サンプル	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>
コントロール	2.9×10 <sup>7</sup>											

上表の様にアルコールの添加効果が認められた。

(実施例3)

市販の糸引き納豆を購入し、60℃で圧力3000 kg/cm<sup>2</sup>で一定時間処理した。その後、加圧処理前後の菌数を測定した。

結果を表-3に示した。

表-3 納豆の残存菌数

1 温度	60℃	
2 圧力 (kg/cm <sup>2</sup> )	3000	
3 処理時間 (分)	20	40
4 コントロール	$9.8 \times 10^7$	
5 高圧処理後の サンプル	$9.8 \times 10^7$	0

未処理のコントロールに比べ、色、糸引き性に

差がなかった。

(実施例4)

嫌気性菌の存在するストレートタイプビーフ・エキス(pH6.5)を80℃30分処理し、芽胞のみとした後、高圧処理した。

結果を表4に示す。

表-4 ビーフ・エキスの高圧処理

1 温度	30℃			80℃		
2 圧力 (kg/cm <sup>2</sup> )	2000			2000		
3 時間 (分)	5	20	40	5	20	40
4 処理サンプル	10 <sup>7</sup>	26	0	12	0	-
5 コントロール	$1.2 \times 10^7$					

コントロールに比べ、香り、色、風味ともに大差がなかった。

PTO: 2000-621

Japanese Published Unexamined (Kokai Tokkyo Koho) Patent Application (A) No. 02257864, published October 18, 1990; Application No. 01-80175, filed March 30, 1989; Int. Cl.: A 23 L 3/015, 1/01; Inventor(s): Takeyoshi Kuriyo; Assignee: Ajinomoto Corporation; Japanese Title: Sterilization Method of Bacteria Spores by High Pressure Treatment

---

## **STERILIZATION METHOD OF BACTERIA SPORES BY HIGH PRESSURE TREATMENT**

### **CLAIM(S)**

A method to sterilize microorganism spores characterized in that raw materials, unfinished products and finished products that need to be protected from deterioration and damage due to production and growth of bacteria spores are sterilized at 30°C - 100°C or less under 1,000 - 10,000 kg/cm<sup>2</sup> for 5 minutes - 5 hours.

### **DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION**

#### **(Field of Industrial Application)**

The present invention pertains to a method to sterilize bacteria spores to provide products with good quality, good appearance, and long shelf- life in order to enhance their market values.

#### **(Prior Art)**

In the prior art bacteria spore sterilization method, the spores are sterilized after products are made or in stage of raw material by heating at 100°C for 30

minutes or longer - 120°C for 15 minutes. But the method suffers from the problems of significant discoloration, loss of flavor and aroma, decomposition of vitamin, amino acid, and deterioration of quality. If the temperature is reduced to prevent the deterioration, the sterilization is not possible. Even one unit/g or ml of spore is remained, it will grow in the distribution process, which will result in consumers claims, recall, and in economic loss. Particularly, spices, bonito powder, extracts, and seasoned herring roe are contaminated with a number of microorganism, such as general bacteria, yeast, mildew, Bacillus, and E-coli. Aerophobic spores are present on chicken and beef extracts, which makes them fail in microorganism industrial standard, so the material to be processed cannot be accessible. As to the Bacillus sterilization by high pressure treatment, Mimmerman and others have reported that 12.000 kg/cm<sup>2</sup> of spores of Bacillus subtilis can be sterilized in 14 hours, but this level of high pressure and long processing time are not suitable for practical use.

**(Problems of the Prior Art to Be Addressed)**

The present invention aims to prevent the poor quality, decomposition, loss of flavor, and to sterilize the unsterilizable products by pressure in order to enhance the market value of the products.

**(Means to Solve the Problems)**

The inventors, as a result of assiduous study on how to solve the problems,

found that, if objects for which the spores of the bacteria need to be sterilized are kept for a specific time period under the preset pressure and the preset temperature, they can be sterilized without reduction in quality, and they have produced the present invention.

The present invention is described in detail below.

In the present invention, if the *Bacillus* and *Clostridium* spores are not desired to grow on the products, they can be sterilized in any stage: the material stage, finished product stage, and merchandize stage. The object to be sterilized are not limited to a specific item, but food which could not be heated in the past, such as herring roe, spice, and raw medicine, starch for sausages and meat products, can be sterilized.

In implementing the present invention, an object to be sterilized is filled in a pressure-resistant container, preferably Teflon container, and heated to the preset temperature under 1000 - 10,000 kg/cm<sup>2</sup> for 5 minutes - 5 hours. The heating temperature is determined by types of *Bacillus* and *Clostridium* to be sterilized, absence or presence of bacteriostasis, or property of the material to be sterilized. Generally, it may be 3000 kg/cm<sup>2</sup> in the neighborhood of 100°C, 6000 kg/cm<sup>2</sup> in the neighborhood of 6000 kg/cm<sup>2</sup> or 10,000 kg/cm<sup>2</sup>. The holding time is 5 minutes - 5 hours, more preferably, 20 minutes - 3 hours.

The pressure medium used in the pressurizing device is not limited to a

specific type, but if food is to be sterilized, city water is preferred.

The embodiment of the present invention is explained below.

**(Embodiment Example 1)**

Bacillus of 1/15 mol cultured in a standard agar culture medium for two weeks at 30°C was immersed in buffer (pH6) phosphate and heated at 30°C for 30 minutes. The spores alone were filled in an inner cell, and treated under high pressure with the parameters shown in Table 1. The result is shown in Table 1.

The bacteria was divided into two groups: a group that died quickly under low pressure, such as *B. Subtilis* and *B. Megaterium*; a group that does not die unless treated under high pressure for a long time, such as *B. licheniformis* and *B. Cereus*. The result indicates that the increase in table salt and reduction in  $A_w$  lead to pressure resistance. [T. Note: All the tables are attached to the end of the translation.]

**(Embodiment Example 2)**

Ethanol was added to the spores of *Bacillus licheniformis* prepared in the same manner as in Embodiment Example 1, and treated under high pressure by the parameters shown in Table 2. The effect of adding alcohol was recognized as indicated in the table.

(Embodiment Example 3)

Market sold Natto [fermented soy beans] was purchased and treated under pressure 3000 kg/cm<sup>2</sup> at 60°C for a specific time period. Subsequently, the number of bacteria before and after the treatment was measured. The result is shown in Table 3. The color and viscosity were not any different from those of the unprocessed control when unprocessed.

(Embodiment Example 4)

Straight type beef extract having aerophobic bacteria (pH 6.5) was treated at 80°C for 30 minutes, and the spores alone were treated under high pressure. The result is shown in Table 4. The color, flavor and taste were not any different from the control.

Table 1 Sterilization of Bacillus spores by pressurizing device

1. Type of bacteria
2. Control
3. Pressure
4. Kept time
5. Table salt

菌種	B. subtilis						B. cereus						B. licheniformis					
	10 <sup>5</sup>						10 <sup>5</sup>						10 <sup>5</sup>					
コントロール (コ/ml)																		
圧力 (kg/cm <sup>2</sup> )	3000		4500		6000		3000		4500		6000		3000		4500		6000	
保持時間 (分)	20	40	20	40	20	40	20	40	20	40	20	40	20	40	20	40	20	40
食塩 (%)	0	17	0	0	0	0	10 <sup>5</sup>	-	-	10 <sup>5</sup>	7	0	10 <sup>5</sup>	-	-	10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup>	10
	3	35	3	0	0	0	10 <sup>5</sup>	-	-	10 <sup>5</sup>	-	10 <sup>5</sup>	0	-	-	10 <sup>5</sup>	-	6
	6	49	25	0	0	0	10 <sup>5</sup>	-	-	10 <sup>5</sup>	-	10 <sup>5</sup>	77	-	-	10 <sup>5</sup>	-	35

# 1. Types of bacteria

## 2. Control

## 3. Pressure

## 4. Kept time

## 5. Table salt

1 2 3 4 5	菌 種	B. coagulans								B. megaterium								B. polymyxa							
		10 <sup>6</sup>								10 <sup>6</sup>								10 <sup>6</sup>							
	コントロール (コ/ml)																								
	圧 力 (kg/cm <sup>2</sup> )	3000		4500		6000				3000		4500		6000				3000		4500		6000			
	保持時間 (分)	20	40	20	40	20	40	60		20	40	20	40	20	40			20	40	20	40	20	40		
	食 塩 (%)	0	10 <sup>3</sup>	-	10 <sup>4</sup>	12	4	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
		3	-	-	-	90	-	44	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-
		6	-	-	-	10 <sup>3</sup>	-	10 <sup>4</sup>	13	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	-	-	-

Table 2 High pressure sterilization of *Bacillus licheniformis*

## 1. Temperature

## 2. Pressure

## 3. Alcohol concentration

## 4. Time

## 5. High pressure treatment

## 6. Control

表-2 バチルス・リケニホルミス (*Bacillus licheniformis*) の耐圧性

1	温 度	30℃								80℃							
2	圧 力 (kg/cm <sup>2</sup> )	2000				8000				2000				8000			
3	アルコール濃 度	0		5		0		5		0		5		0		5	
4	時 間	20	40	20	40	20	40	20	40	20	40	20	40	20	40	20	40
5	高圧処理 サンプル	10 <sup>8</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>8</sup>	4.8	10 <sup>8</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>8</sup>	0	0	0	0	0
6	コントロール	2.9 × 10 <sup>7</sup>															

Table 3 Remaining number of bacteria in Natto

1. Temperature
2. Pressure
3. Treatment time
4. Control
5. High pressure treated sample

表-3 納豆の残存菌数

1	温 度	60℃	
2	圧 力 (kg/cm <sup>2</sup> )	3000	
3	処理時間 (分)	20	40
4	コントロール	9.8 × 10 <sup>7</sup>	
5	高圧処理後の サンプル	9.8 × 10 <sup>7</sup>	0

**Table 4 High pressure treatment of beef extract**

1. Temperature

2. Pressure

3. Time

4. Treated sample

5. Control

表-4 ビーフ・エキスの高圧処理

1 温度	30℃			80℃		
2 圧力 (kg/cm <sup>2</sup> )	2000			2000		
3 時間 (分)	5	20	40	5	20	40
4 処理サンプル	10'	26	0	12	0	-
5 コントロール	1.2 × 10'					

**Translations**

**U.S. Patent and Trademark Office**

**12/3/99**

**Akiko Smith**